

接触性感作性物質によって誘導される細胞内レドックスのバランスの変化が樹状細胞の活性化の引き金になる

著者	水芦 政人
号	2239
発行年	2005
URL	http://hdl.handle.net/10097/22821

氏 名（本籍） 水 芦 政 人

学 位 の 種 類 博 士 （ 医 学 ）

学 位 記 番 号 医 博 第 2 2 3 9 号

学位授与年月日 平 成 17 年 3 月 25 日

学位授与の条件 学位規則第 4 条第 1 項該当

研 究 科 専 攻 東北大学大学院医学系研究科
（博士課程）医科学専攻

学 位 論 文 題 目 Redox imbalance induced by contact sensitizers
triggers the maturation of dendritic cells
（接触性感作性物質によって誘導される細胞内レ
ドックスのバランスの変化が樹状細胞の活性化の
引き金になる）

（主 査）
論文審査委員 教授 相 場 節 也 教授 佐々木 毅

教授 土 屋 滋

論 文 內 容 要 旨

Although recent studies suggest a crucial role of p38 mitogen-activated protein kinases (MAPK) in the activation of monocyte-derived dendritic cells (MoDCs) by contact sensitizers, the upstream signals of p38 MAPK remain undetermined. In this study, to prove the hypothesis that sensitizers induce redox or oxidative stress in DCs, which subsequently stimulates p38 MAPK, we measured the ratio of the oxidized (GSSG) vs. reduced (GSH) form of cellular glutathione in MoDCs stimulated with various concentrations of sensitizers such as NiCl₂, MnCl₂, 2,4-dinitrochlorobenzene (DNCB), thimerosal, and formaldehyde (HCHO), and non-sensitizers such as ZnCl₂, sodium dodecyl sulfate (SDS), and benzalkonium chloride (BC). GSH and GSSG were measured using colorimetric assays. The results demonstrated that all the sensitizers, but none of the non-sensitizers at sublethal concentration, reduced the GSH/GSSG ratio in MoDCs, which was accompanied by phosphorylation of p38 MAPK. In addition, treatment with the antioxidant, N-acetyl-L-cysteine (NAC), which suppressed the reduction of the GSH/GSSG ratio, abrogated both the phosphorylation of p38 MAPK and the augmentation of CD86 expression by MoDCs. The similar response pattern was also observed in a human monocyte cell line, THP-1, after stimulation with the chemicals. Unexpectedly, however, HCHO reduced the GSH/GSSG ratio in MoDCs, but not in THP-1. This finding, in conjunction with the observation that DNCB and NiCl₂ reduced the GSH/GSSG ratio at different kinetics, indicated that the sensitizers reduced the GSH/GSSG ratio by different mechanism. These data suggest that the GSH/GSSG imbalance plays a crucial role in triggering DC maturation by sensitizers.

審 査 結 果 の 要 旨

私達は今まで化学物質の刺激に対する樹状細胞の抗原提示能の増強について、共刺激分子の発現の上昇、サイトカインの産生、アポトーシスの誘導、そしてそのシグナルとして p38 MAPK の活性化が重要であることを示してきたが、p38 MAPK の上流のシグナルといわれる細胞内の酸化ストレスについてはまだよく分かっていない。そこで今回私達は、接触皮膚炎を起こすアレルゲンとなる化学物質が樹状細胞内に酸化ストレスを誘導するか否かを、酸化型 (GSSG) と還元型 (GSH) の細胞内グルタチオンの比 (GSH/GSSG) を測定することにより検討した。健康人の末梢血単球由来樹状細胞を様々な濃度の接触アレルゲン (塩化ニッケル、塩化マンガン、2,4-ジニトロクロロベンゼン、ジフェニルシクロプロペノン、チメロザール、ホルマリン) と一次刺激性物質 (ドデシル硫酸ナトリウム、塩化ベンザルコニウム) で刺激し、2 時間後に GSH/GSSG を 5' 5-Dithiobis (2-nitrobenzoic acid) による酵素サイクリング法を利用した比色法で定量した。全ての細胞死を起こす直前の濃度の接触アレルゲンで GSH/GSSG の比の低下、p38 MAPK のリン酸化がみられ、一次刺激性物質では両者ともみられなかった。また、そこに抗酸化物質である N-アセチルシステイン (NAC) を添加すると接触アレルゲンでの GSH/GSSG の比の低下と p38 MAPK のリン酸化が抑制された。ヒトの単球系細胞である THP-1 細胞でもほぼ同様の結果が得られた。すなわち樹状細胞内の GSH/GSSG の比の低下はその刺激物質の接触皮膚炎の誘導能力と相関しており、CD86 の発現上昇がみられなかったホルマリンにおいても GSH/GSSG が著明に低下していた。今回の知見から、化学物質で刺激された樹状細胞の p38 MAPK の上流のシグナルとしてレドックスバランスの変化が重要であると共に、樹状細胞や単球内のグルタチオンの定量により、刺激物質が接触アレルゲンか一次刺激性物質か、もしくは感作能も簡便に同定できる可能性が示された。

以上を踏まえて、本論文は、論文審査、最終審査において、博士論文としてふさわしいものの審査結果を得た。